

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

特許協力条約に基づいて国際公開された日本語特許出願

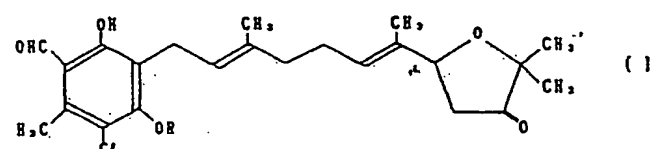
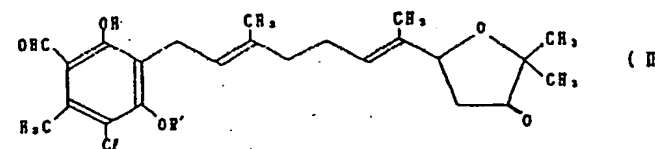
出願番号 特願平 6-506100

(平成 6 年 9 月 1 日発行)

Int. Cl.³ 識別記号

C 07 D 307/32

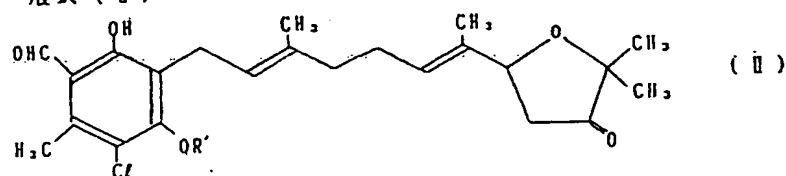
部門(区分) 3(2)
審査請求 未請求
予備審査請求 有

A1	(11) 国際公開番号 (43) 国際公開日	WO 94/04520 1994年3月3日 (03.03.1994)					
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01135</p> <p>(22) 国際出願日 1993年8月11日(11 08. 93)</p> <p>(30) 優先権データ</p> <table border="0"> <tr> <td>特願平 4/214124</td> <td>1992年8月11日(11 08. 92)</td> <td>JP</td> </tr> <tr> <td>特願平 5/18904</td> <td>1993年2月5日(03. 02. 93)</td> <td>JP</td> </tr> </table> <p>(71) 出願人(本国を除く1以上の指定国について) 株式会社 イムノジャパン (IMMUNO JAPAN INC.) (JP/JP) 〒167 東京都杉並区萩原4丁目80番1 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者: および</p> <p>(75) 発明者/出願人(本国についてのみ) 越川知良 (HOSOKAWA, Tomoyoshi) (JP/JP) 〒222 神奈川県横浜市港北区菊名6丁目10番18号 Kanagawa, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁護士 湯浅三三 氏 (YUASA, Kyōza et al.) 〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206号 湯浅法律事務所 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AT (欧州特許), BE (欧州特許), CH (欧州特許), DE (欧州特許), DK (欧州特許), ES (欧州特許), FR (欧州特許), GB (欧州特許), GR (欧州特許), IE (欧州特許), IT (欧州特許), JP, LU (欧州特許), MC (欧州特許), NL (欧州特許), PT (欧州特許), SE (欧州特許), US.</p>	特願平 4/214124	1992年8月11日(11 08. 92)	JP	特願平 5/18904	1993年2月5日(03. 02. 93)	JP	<p>送付公開書類</p> <p>国際調査報告書</p>
特願平 4/214124	1992年8月11日(11 08. 92)	JP					
特願平 5/18904	1993年2月5日(03. 02. 93)	JP					
<p>(54) Title : ASCOFURANONE, AND HYPOLIPIDEMIC AGENT, HYPOGLYCEMIC AGENT AND GLYCATION INHIBITOR EACH CONTAINING ASCOFURANONE DERIVATIVE AS ACTIVE INGREDIENT</p> <p>(54) 発明の名称 アスコフランノン及びアスコフランノン誘導体を主成分とする血中脂質低下剤、血糖低下剤並びにグリケーション阻害剤</p> <div style="text-align: center;">  <p>(I)</p>  <p>(II)</p> </div> <p>(57) Abstract</p> <p>An ascofuranone derivative represented by general formula (II) (wherein R¹ represents lower alkylcarbonyl, pyridylcarbonyl, benzoyl substituted by one lower alkyl or alkoxy group, toluenesulfonyl, carbamoyl substituted by one or two lower alkyl groups, or lower alkyl substituted by lower alkoxy carbonyl); a hypolipidemic agent containing the same as the active ingredient; and a hypoglycemic agent or a glycation inhibitor each containing an ascofuranone derivative represented by general formula (I) (wherein R represents hydrogen, lower alkylcarbonyl, pyridylcarbonyl, benzoyl substituted by one lower alkyl or alkoxy group, toluenesulfonyl, carbamoyl substituted by one or two lower alkyl groups, or lower alkyl substituted by lower alkoxy carbonyl) as the active ingredient. The compounds represented by the above general formulae (I) and (II) are excellent in hypoglycemic, hypolipidemic and glycation-inhibiting effects, thus being remarkably useful for preventing and treating diabetes, arteriosclerosis and so forth.</p>							

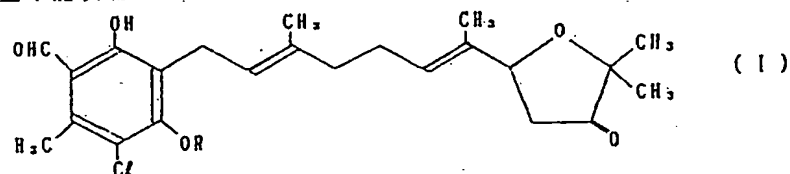
註 この公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

(57) 要約

一般式 (Ⅱ)



(式中、R' は低級アルキルカルボニル基、ビリジルカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) で示されるアスコフラノン誘導体及びこの誘導体を有効成分として含有する血中脂質低下剤、並びに一般式 (Ⅰ)



(式中、R は水素原子、低級アルキルカルボニル基、ビリジルカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) を有効成分として含有する血糖低下剤又はグリケイション阻害剤。

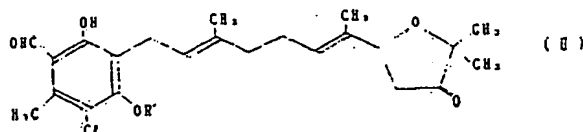
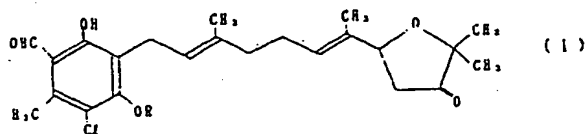
上記式 (Ⅰ) 又は (Ⅱ) で示される化合物は、優れた血糖低下、血中脂質低下作用及びグリケイション阻害作用を示すので、糖尿病、動脈硬化症等の予防薬、治療薬として極めて有用である。

明 細 書

アスコフラノン及びアスコフラノン誘導体を主成分とする血中脂質低下剤、血糖低下剤並びにグリケイション阻害剤

技術分野

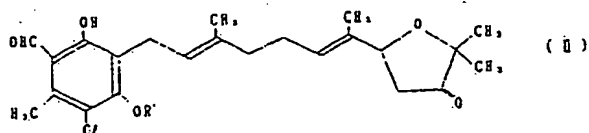
本発明は下記一般式(Ⅰ)で示されるアスコフラノン及びその誘導体を有効成分とする血糖低下剤及びグリケイション阻害剤、並びに下記一般式(Ⅱ)で示されるアスコフラノン誘導体及びこれらをも有効成分とする血中脂質低下剤に関する。



(式中、Rは水素原子、低級アルキルカルボニル基、ビリジカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンシルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味し、R'は低級アルキルカルボニル基、ビリジカルボニル基、1個の低

級アルキル基、1個の低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンシルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する)で示されるアスコフラノン誘導体及び誘導体を有効成分として含有する血中脂質低下剤に関する。

本発明は一般式(Ⅱ)



(式中R'は低級アルキルカルボニル基、ビリジカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンシルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する)で示されるアスコフラノン誘導体及び誘導体を有効成分として含有する血中脂質低下剤に関する。

更に、本発明に一般式(Ⅰ)

級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンシルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する。)

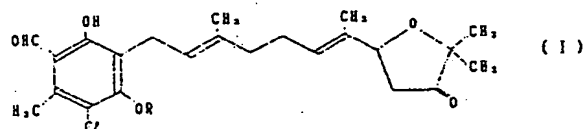
発明技術

上記一般式(Ⅰ)で示される化合物のうち、Rが水素原子の化合物は本発明者等により発明されたアスコフラノンとして知られている化合物である。アスコフラノンは、糸状菌アスコキタ・ビシエ(*Ascochyta blight*)によって産生されるイソプレノイド系天然物質であり、その具体的製法は特公昭56-25310号公報に記載されている。アスコフラノンの生物活性としては、これまでに血中脂質低下作用(「ジャーナル・オブ・アンチバイオティクス」26巻、681頁、1973年及び「ジャポン・ジャーナル・オブ・ファーマコロジー」25巻、35頁、1975年参照)が知られている。

また、アスコフラノン製造時に上記糸状菌から産生されるアスコクロリンおよび、その誘導体の血糖低下作用についてはすでに知られている(特公平3-6138号公報参照)。

発明の開示

本発明者は、アスコフラノンの薬剤としての新たな有用性を探るために鋭意研究を重ねた結果、アスコフラノンが優れた血糖低下作用を有することを見出した。のみならず、上記一般式(Ⅱ)で示される新規なアスコフラノン誘導体もアスコフラノンと同様に優れた血糖低下作用を有することを見出した。更に、糖尿病性合併症の原因の一つとしてグリケイションを受け



(式中、Rは水素原子、低級アルキルカルボニル基、ビリジカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンシルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する)で示される化合物を有効成分として含有する血糖低下剤並びにグリケイション阻害剤に関する。

上記の本発明化合物の置換基において、低級アルキルおよび低級アルコキシとは、それぞれ、炭素数1-6のアルキルおよび炭素数1-6のアルコキシを意味する。

ビリジカルボニル基において、ビリジン環上におけるカルボニルの置換位置は2位(すなわち、ニコリノイル)、3位(すなわち、ニコチノイル)、4位(すなわち、イソニコチノイル)のいずれであっても良い。

ベンゾイル基のベンゼン環上におけるアルキル基もしくは低級アルコキシ基の位置は、オルト位、メタ位、パラ位のいずれであっても良い。

本発明においてトルエンシルホニル基とは、オルトトルエンシルホニル基、メタトルエンシルホニル基、パラトルエンシルホニル基のうちのいずれかを意味する。

本発明において、一般式(Ⅱ)で示される化合物に新規化合物であり、これらの化合物はアスコフラノン为原料として、例えば酸ハロゲン化物、酸無水物、場合によってはシアネート、イソシアネート等の酸の反応性誘導体を縮合剤(ピリジン類、トリエチルアミンのような3級アミン、ジメチルアニリン、アルカリ塩基等)の存在下あるいは縮合剤を無添加で反応させることによって製造される。

一般式(Ⅱ)で示される本発明化合物のうち、代表的なものとして以下の化合物を挙げるができる。

- 4-O-アセチルアスコフラノン(実施例-5の化合物)
- 4-O-プロピオニルアスコフラノン
- 4-O-ブチルアスコフラノン
- 4-O-イソニコチノイルアスコフラノン(実施例-1の化合物)
- 4-O-ニコチノイルアスコフラノン
- 4-O-ピコリノイルアスコフラノン(実施例-5の化合物)
- 4-O-メチルカルバモイルアスコフラノン
- 4-O-エチルカルバモイルアスコフラノン
- 4-O-ジメチルカルバモイルアスコフラノン
- 4-O-ジエチルカルバモイルアスコフラノン(実施例-2の化合物)
- 4-O-メトキシカルボニルメチルアスコフラノン(実施例-4の化合物)
- 4-O-メトキシカルボニルエチルアスコフラノン
- 4-O-メトキシカルボニルプロピルアスコフラノン

レシチン等を用いて製造することができる。

発明を実施するための最良の形態

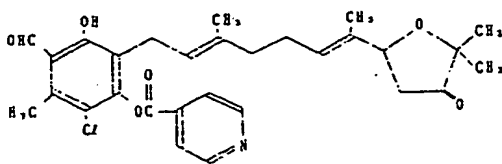
以下に本発明を実施例に基づいて詳細に説明するが、これは本発明を何等限定するものではない。

実施例

実施例-1

アスコフラノン1.68g(3.99ミリモル)を乾燥ピリジン50mlに溶かし攪拌しつつ、イソニコチン酸クロライド塩1.1g(6.18ミリモル)を加え、80-90℃で24時間加熱攪拌ののち、反応溶液を減圧濃縮乾燥した。残渣を酢酸エチルに溶解し、希塩酸、水にて洗浄、乾燥後、酢酸エチルを減圧濃縮し、残留する油状物をシリカゲルクロマトグラフィーにて、分離精製した。下記の式で示される目的物が油状物として1.8g得られた。

プロトン核磁気共鳴<400MHz, CDCl₃, 内部標準TMS>
 δ : 1.21(3H, s), 1.28(3H, s), 1.54(3H, s), 1.62(3H, s), 1.93(2H, m), 2.17(2H, m), 2.40(2H, m), 2.69(3H, s), 3.50(2H, m), 4.52(1H, dd, J=6.2, 9.9Hz), 5.09(1H, t, J=7.0Hz), 5.48(1H, t, J=7.0Hz), 8.04(2H, dd, J=1.5, 4.4Hz), 8.91(2H, dd, J=1.5, 4.4Hz), 10.34(1H, s), 12.51(1H, s)



- 4-O-エトキシカルボニルメチルアスコフラノン
- 4-O-エトキシカルボニルエチルアスコフラノン
- 4-O-エトキシカルボニルプロピルアスコフラノン(実施例-3の化合物)

- 4-O-バラメチルベンゾイルアスコフラノン
- 4-O-バラメトキシベンゾイルアスコフラノン(実施例-5の化合物)

- 4-O-バラエチルベンゾイルアスコフラノン
- 4-O-バラエトキシベンゾイルアスコフラノン
- 4-O-オルトメチルベンゾイルアスコフラノン
- 4-O-オルトメトキシベンゾイルアスコフラノン
- 4-O-オルトエチルベンゾイルアスコフラノン
- 4-O-オルトエトキシベンゾイルアスコフラノン
- 4-O-バラトルエンスルホニルアスコフラノン(実施例-5の化合物)

- 4-O-オルトトルエンスルホニルアスコフラノン
- 4-O-メタトルエンスルホニルアスコフラノン

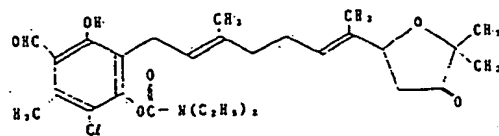
なお、アスコフラノンに、一般式(Ⅰ)で示される化合物において、Rが水素原子の化合物である。

本発明の化合物を薬剤として用いる場合は単独で用いてもよいが、通常は懸濁剤、賦形剤又はその他の補助剤と混合して経口投与に適する剤形として製剤化することが望ましい。賦形剤または補助剤としてに乳剤、硬脂、種々の澱粉、ぶどう糖、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸塩、タルク、植物油

実施例-2

アスコフラノン2.52g(5.99ミリモル)を乾燥ピリジン50mlに溶かし、これにN, N-ジエチルカルバモイルクロライド1.5g(10.84ミリモル)を加えて80-90℃で24時間加熱攪拌した。酢酸エチルにて残渣を溶解し、希塩酸、水にて洗浄、乾燥後、酢酸エチルを減圧濃縮した。残留する油状物をシリカゲルクロマトグラフィーにて分離し、油状の目的物をエタノールに溶解し、室温に放置すると下記の式で示される目的物の結晶1.0gが析出した。エタノールから再結晶した製品は融点69-70℃を示した。

プロトン核磁気共鳴<400MHz, CDCl₃, 内部標準TMS>
 δ : 1.21(3H, t, J=7.0Hz), 1.21(3H, s), 1.28(3H, s), 1.31(3H, t, J=7.0Hz), 1.63(3H, s), 1.74(3H, s), 2.02(2H, m), 2.13(2H, m), 2.40(2H, br m), 2.64(3H, s), 3.24(1H, br s), 3.40(3H, q, J=7.0Hz), 3.50(2H, m), 4.51(1H, dd, J=6.6, 9.5), 5.15(1H, dd, J=5.5, 7.0), 5.51(1H, t, J=7.0), 10.28(1H, s), 12.53(1H, s)



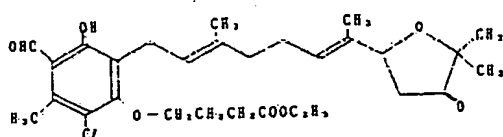
実施例-3

アスコフラノン2.52g(5.99ミリモル)をジメチルホルミアミド50mlに溶かし、これに60%水酸化ナトリウム0.2

gを少しづつ加える。得られたナトリウム塩の溶液に4-ブ
ロム酢酸エチルエステル1.8g(9.3ミリモル)を加え、90-
100℃に3時間加熱する。つぎに60%水酸化ナトリウム
0.1g及び4-ブロム酢酸メチルエステル0.5gを追加し、さ
らに10時間加熱する。反応溶液を減圧濃縮乾固し、残留物を
1%塩酸40ml及びクロロホルム40mlで分液する。

クロロホルム液を減圧濃縮乾固する。残留する油状物をシリ
カゲルクロマトグラフィーにより分離精製し、下記の式で示さ
れる目的物が油状物として1.2g得られた。

プロトン核磁気共鳴<400MHz, CDCl₃, 内部標準TMS>
δ: 1.03(3H, br s), 1.76(3H, br s), 2.03(2H, m), 2.17(4H,
m), 2.34(1H, dd, J=9.9Hz, 18.3Hz), 2.41(1H, dd, J=6.2Hz, 18.3
Hz), 2.62(2H, m), 2.62(3H, s), 3.35(2H, d, J=6.6Hz), 3.97
(2H, t, J=6.0Hz), 4.16(2H, q, J=7.0Hz), 4.51(1H, dd, J=6.2Hz,
9.9Hz), 5.17(1H, dd, J=6.6Hz, J=5.5Hz), 5.50(1H, t, J=6.6Hz),
10.24(1H, s), 12.54(1H, s)



実施例-4

アスコフラノン2.52g(5.99ミリモル)をジメチルホル
ムアミド30mlに溶かす。これに60%水酸化ナトリウム0.2
gを少しづつ加える。得られたナトリウム塩の溶液にブロム酢

油状物)

- (a) 4-O-アセチルアスコフラノン(黄褐色油状物)
- (b) 4-O-ピコリノイルアスコフラノン(黄褐色油状物)
- (c) 4-O-パラトルエシズルホニルアスコフラノン(褐色油
状物)

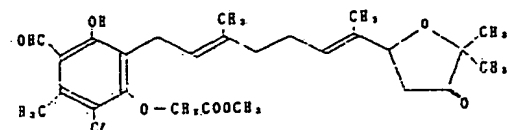
本発明のアスコフラノンならびにその誘導体のグリケイシ
ン阻害作用ならびに血糖低下作用を検討するためにin vivo,
in vitro実験を行った。グリケイション阻害作用は牛血清アル
ブミンとグルコースを含む反応液にアスコフラノンならびにそ
の誘導体を添加し、長時間培養して、生成したフルクトース-
リジンの酸加水分解産物フロシン量を測定するとともに、リボ
ース、アルギニン、リジンを含む反応液にアスコフラノンなら
びにその誘導体を添加して培養し、生成したグリケイション後
期段階化合物のひとつであるペントシジンを測定することによ
ってアスコフラノンならびにその誘導体のグリケイション阻
害効果を検討した。血糖低下作用は遺伝性糖尿病d¹b/d¹bマ
ウスとストレプトゾトシン糖尿病マウスにアスコフラノンなら
びにその誘導体を経口投与して血糖値を測定することによって
血糖低下効果を検討した。

実施例-5

2.5mg/mlの牛血清アルブミンと400mMのグルコースを含
む反応液に0.1, 0.4, 1.6mg/mlのアスコフラノンを添加し、
37℃で14日間培養した。生成したフロシンを高速液体クロ
マトグラフィー(280nm, 0.7mMリン酸)で測定し、その
面積で表示した。その結果を表1に示した。

酸メチルエステル1.5g(9.8ミリモル)を加える。室温に一
夜放置した後さらに60%水酸化ナトリウム0.02gおよびブ
ロム酢酸メチルエステル0.15gを加える。一夜放置した後、
減圧濃縮する。残った油状物に1%塩酸100mlおよびクロ
ロホルム100mlを加えて分液ロートにて攪拌し、クロロホルム
層を分取し濃縮乾固する。残った油状物にメタノールを加えて
一夜放置すると目的物の結晶1.9gが析出した。メタノールか
ら再結晶した標品は融点77℃を示した。

プロトン核磁気共鳴<400MHz, CDCl₃, 内部標準TMS>
δ: 1.21(3H, s), 1.27(3H, s), 1.63(3H, s), 1.76(3H, s), 2.03
(2H, m), 2.14(2H, m), 2.35(1H, dd, J=10.3Hz, 18.3Hz), 2.43
(1H, dd, J=6.2Hz, 18.3Hz), 2.64(3H, s), 3.45(2H, d, J=7.0Hz),
3.84(3H, s), 4.52(1H, dd, J=6.2Hz, J=10.3Hz), 4.58(2H, s),
5.16(1H, dd, J=5.5Hz, J=7.0Hz), 5.50(1H, t, J=7.0Hz),
10.26(1H, s), 12.52(1H, s)



実施例-5

上記各実施例と同様にして、アスコフラノン及びそれぞれ対
応する酸クロライド又はスルホニルクロライドから次の化合物
を製造した。

- (a) 4-O-パラメトキシベンゾイルアスコフラノン(黄褐色

表 1

	フロシジ	阻害率(%)
アスコフラノン 0mg/ml	373437±20444	
0.1	351979±10845	5.8%NS
0.4	318517±17772	14.7%*
1.6	276718±15091	25.9**
平均±標準誤差		* p < 0.05 ** p < 0.01

表1に示すようにアスコフラノン0.4, 1.6mg/ml添加によ
り、フロシジの生成を有意に阻害した。

実施例-7

2.5mg/mlの牛血清アルブミンと400mMのグルコースを含
む反応液に、各1mg/mlのアスコフラノンとその誘導体を添加
し、37℃、12日間培養した。生成したフロシジを高速液体
クロマトグラフィーで測定し、その面積で表示した。

結果を表2に示した。

表 2

	フロシン	阻害率(%)
無添加	237926±6192	
4-0-イソニコチノイル	258355±16901	0
アスコフラノン		
4-0-エトキシカルボニル	198542±4238	16.6% *
プロピルアスコフラノン		
4-0-メトキシカルボニル	196292±2784	17.5% *
メチルアスコフラノン		
4-0-ジエチルカルバモイル	198644±9458	20.7% **
アスコフラノン		
4-0-ジメチルカルバモイル	185431±10611	22.6% **
アスコフラノン		
アスコフラノン	178829±13411	24.8% **
平均±標準誤差		* p < 0.05 ** p < 0.01

結果に表2に示すようにアスコフラノンとその誘導体は何れもフロシンの生成を有意に阻害した。

実験例-8

各10mMのリボース、アルギニン、リジンを含む反応液に20, 100, 500, 1000 μ g/mlのアスコフラノンを添加し、37℃、4, 8日間培養した。生成したペントシジンを高速液体クロマトグラフィー（励起335、蛍光385、7mMリン酸）で測定し、その面積で表示した。結果を表3に示した。

表 4

	ペントシジン (阻害率%)
無添加	608457±24314
4-0-メトキシカルボニル	0 (100% **)
メチルアスコフラノン	
アスコフラノン	0 (100% **)
4-0-ジメチルカルバモイル	703972±3317 (0% ns)
アスコフラノン	
4-0-ジエチルカルバモイル	883578±10048 (0% ns)
アスコフラノン	
4-0-エトキシカルボニル	58801±5650 (90.3% **)
プロピルアスコフラノン	
4-0-イソニコチノイル	0 (100% **)
アスコフラノン	
平均±標準誤差	* p < 0.05 ** p < 0.01

結果に表4に示すようにアスコフラノン、4-0-メトキシカルボニルメチルアスコフラノン、4-0-エトキシカルボニルプロピルアスコフラノン、4-0-イソニコチノイルアスコフラノンはペントシジンの生成を90%以上、阻害した。

実験例-10

6週齢の雄性遺伝性糖尿病db/dマウスにアスコフラノンは、その誘導体0.3%を含む飼料（日本クレア、CE-2）を1週間与え、7日に屠殺して血漿ならびに血中中性脂肪を測定した。結果を表5に示した。

表 3

		ペントシジン	(阻害率%)
		4日間	8日間
アスコフラノン	0 μ g/ml	310249 \pm 6061	507788 \pm 18683
	20	58405 \pm 2401 (81.2% --)	91195 \pm 7067 (82.0% --)
	100	0 (100% --)	22942 \pm 1894 (95.5% --)
	500	0 (100% --)	0 (100% --)
	1000	0 (100% --)	0 (100% --)
平均 \pm 標準誤差		** p < 0.01	

結果に表3に示すように、アスコフラノン1000, 500 μ g/ml添加では100%, 100, 20 μ g/ml添加でもペントシジンの生成を有意に阻害した。

実験例-9

各10mMのリボース、アルギニン、リジンを含む反応液に、各1 μ g/mlのアスコフラノンとその誘導体を添加し、37℃、8日間培養した。生成したペントシジンを高速液体クロマトグラフィーで測定し、その面積で表示した。結果を表4に示した。

表 5

化合物	血糖 mg/dl	中性脂肪 mg/dl
対照群	594.1±12.5	331.9±15.8
アスコフラノン	458.4±39.5 (-22.8% *)	271.6±12.8 (-18.2% *)
4-0-イソニコチノイル	504.7±48.8 (-15.0% *)	285.4±19.5 (-14.0% *)
アスコフラノン		
4-0-ジエチルカルバモイル	463.7±40.4 (-21.9% *)	202.6±23.0 (-39.0% **)
メチルアスコフラノン		
4-0-パラメトキシベンゾ	470.4±33.8 (-20.8% *)	218.3±12.8 (-34.2% **)
イルアスコフラノン		
4-0-パラトルエンスルホ	488.4±30.7 (-17.8% *)	293.1±20.0 (-11.7% *)
ニルアスコフラノン		
平均±標準誤差	* p < 0.05 ** p < 0.01	

結果に表5に示すように実験に用いたすべての化合物が血糖ならびに血中中性脂肪低下作用を示した。

実験例-11

160 μ g/kgのストレプトゾトシンを腹腔内投与したd/dYマウスに各8 μ g/kgのアスコフラノンとその誘導体を7日間、経口投与し、血糖値を測定した。

表 6

	体重 (g)	血糖 (mg/dl)
対照群	30.1±0.5	430.9±47.5
アスコフラノン	30.1±0.7	348.4±30.8 -19.1% *
4-O-ジメチルカルバモイル	31.0±0.9	357.0±42.5
アスコフラノン		-17.2% *
4-O-ジエチルカルバモイル	29.8±0.9	303.8±26.2
アスコフラノン		-29.5% **
4-O-イソニコチノイル	30.9±0.5	323.8±30.2
アスコフラノン		-23.2% *
4-O-エトキシカルボニル	31.1±0.6	305.6±20.9
プロピルアスコフラノン		-29.1% **
平均±標準誤差		* p < 0.05 ** p < 0.01

結果を表6に示すように、アスコフラノンとその誘導体はいずれもストレプトゾチン投与マウスの血糖値を有意に低下した。

実験例-1.2

8週齢の雄性遺伝性糖尿病db/dbマウスとその正常同 litter 仔にアスコフラノン0.3%を含む飼料(日本クレア、CE-2)を1週間与え、7日目に屠殺して血糖ならびに血中中性脂肪を測定した。結果を表7に示した。

表 8

アスコフラノンの投与量	血糖 (mg/dl)	中性脂肪 (mg/dl)
0 (対照群)	615±16	332±16
391 mg/kg	405±31 -34% **	203±23 -39% **
156 mg/kg	433±41 -32% *	218±18 -34% **
63 mg/kg	530±12 -15% *	272±13 -22% *
平均±標準誤差		* p < 0.05 ** p < 0.01

表8に示すようにアスコフラノンの懸濁液を7日間経口投与することによって血糖値と血中中性脂肪値は有意に低下した。

実験例-1.4

ddYマウスにアスコフラノン又はその誘導体をそれぞれ8 mg/kg、7日間経口投与した。結果を表9に示した。

表 7

	体重 (g)	血糖 (mg/dl)	中性脂肪 (mg/dl)
db/dbマウス			
対照群	46±1	523±24	288±18
アスコフラノン	48±1	405±48 ns -23% *	239±11 -17% *
正常同 litter 仔			
対照群	25±1	167±15	216±8
アスコフラノン	23±1	163±15 ns	167±18 -23% *
平均±標準誤差			* p < 0.05

表7に示すようにdb/dbマウスにアスコフラノンを餌に混合して与えることによって血糖値と血中中性脂肪値は有意に低下した。

実験例-1.3

8週齢の雄性遺伝性糖尿病db/dbマウスに2%アラビガムに懸濁したアスコフラノン391, 156, 63 mg/kgを7日間、経口投与した。結果を表8に示した。

表 9

化合物	血糖 (mg/dl)	中性脂肪 (mg/dl)	コレステロール (mg/dl)
対照群	244.1±9.6	190.7±16.9	190.5±7.8
アスコフラノン	253.7±12.5 ns	189.1±11.7 ns	202.0±7.8 ns
4-O-ジエチルカルバモイルアスコフラノン	236.4±21.9 ns	157.3±23.2 -17.5% *	163.0±10.6 ns
4-O-ジメチルカルバモイルアスコフラノン	288.3±18.0 ns	231.0±24.8 ns	173.1±7.2 ns
4-O-イソニコチノイルアスコフラノン	283.3±11.7 ns	164.3±14.0 ns	166.7±8.1 ns
4-O-メトキシカルボニルアスコフラノン	250.6±14.1 ns	140.3±8.3 -26.4% *	164.0±6.6 -14.0% *
平均±標準誤差			* p < 0.05

結果を表9に示すように4-O-メトキシカルボニルアスコフラノン投与群では中性脂肪が26.4%、コレステロールが14.0%、4-O-ジエチルカルバモイルアスコフラノン投与群では中性脂肪が17.5%、それぞれ対照群に比べて有意に低値を示した。

産業上の利用可能性

アスコフラノン及び式(II)で示される新規なアスコフラノン誘導体は優れた血糖低下、血中脂質低下作用並びにグリケイション阻害作用を示すので、糖尿病、動脈硬化症等の予防、治療薬として極めて有用である。

